

证 明

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日: 2003.09.30

申 请 号: 03135958.2

申 请 类 别: 发明

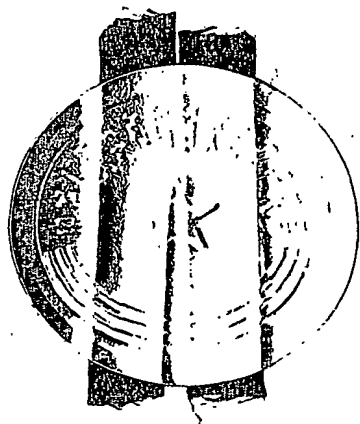
发明创造名称: 毛细腔室芯片、毛细芯片及芯片元件及装置

申 请 人: 成都夸常科技有限公司

发明人或设计人: 邹方霖、陈春生、陈宁、王建霞、胡冬

REC'D 07 MAY 2004

WIPO PCT



PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

中华人民共和国
国家知识产权局局长

王 景 川

2004 年 4 月 6 日

BEST AVAILABLE COPY

权利要求书

1、毛细腔室芯片，特征在于：其至少一面上含有至少一个不可逆封闭式或可逆封闭式毛细腔室反应器（1），所述毛细腔室反应器包括含有顶面（2）和底面（3）和腔室壁（4）的毛细腔室（5）、固定在所述毛细腔室中底面或/和顶面上的配基（6）以及与所述毛细腔室连通的进液结构（7）和出液结构（8），其中毛细腔室的包括顶面和底面的尺寸、间距和材料性质的选择使得反应介质可以在所述毛细腔室中形成毛细现象，所述反应介质包括水溶液或/和有机液体，所述材料性质包括亲水性或/和疏水性。

2、根据权利要求1所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有由顶面元件（9）和底面元件（10）形成或参与形成的一个或一个以上的毛细腔室反应器，而且所述顶面元件和底面元件中至少一个包含有片基。

3、根据权利要求2所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的配基，其在所述片基上呈包括阵列式（11）、虚线式（12）、实线式（13）、虚条式（14）和实条式（15）的有序分布。

4、根据权利要求3所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的毛细腔室，其顶面和底面的最大横向宽度为0.5mm-75mm、优选方案1.5mm-35mm，其顶面和底面的间距小于500um、优选方案小于100um，其顶面或/和底面材料的静态反应介质接触角小于70度、优选方案小于50度、更优选方案小于35度。

5、根据权利要求4所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有不可逆封闭式毛细腔室反应器，所述封闭是通过顶面元件和底面元件之间的包括粘合或/和热融合或/和HF或硅酸钠低温键合的方式形成的。

6、根据权利要求5所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中至少参与形成毛细腔室的顶面元件部分或/和底面元件部分透明而且厚度小于1mm、优选方案小于0.2mm。

7、根据权利要求6所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其可直接由共聚焦荧光

扫描仪检出反应结果。

8、根据权利要求 4 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有可逆封闭式毛细腔室反应器，其中的顶面元件或/和底面元件中含有毛细腔室壁和与所述腔室壁连通或不连通的片基密封结构，所述片基密封结构包括机械密封结构或/和物理化学隔离密封结构或/和胶粘密封结构。

9、根据权利要求 8 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和机械密封结构包括含有邵尔硬度 20-100 度的高分子材料涂层或片或带。

10、根据权利要求 9 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述高分子材料包括含有下列一种或一种以上的高分子组合的材料：天然橡胶、丁腈橡胶、丁基橡胶、氟橡胶、硅橡胶、氟硅橡胶、有机硅聚合物、含氟聚合物、塑料。

11、根据权利要求 8 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和物理化学隔离密封结构包括含有静态反应介质接触角大于 80 度的高分子材料或/和纳米材料的疏反应介质涂层、片或带。


12、根据权利要求 11 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述高分子材料包括含有机硅或含氟聚合物的材料。

13、根据权利要求 11 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述纳米材料包括含有下列一种或一种以上的纳米粉体的修饰结合有疏水基的衍生物：金、钒、铅、银、铁及其氧化物粉体和氧化硅、氧化钛、氧化铝粉体。

14、根据权利要求 8 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和胶粘密封结构包括可逆胶粘层和不可逆胶粘层，在为不可逆胶粘层时毛细腔室在需要时通过开放顶面或底面形成开放式腔室。

15、根据权利要求 1-14 之一所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中所述毛细腔室顶面或/和底面的材料选自于以下之一或任意两种或两种以上的组合：玻璃、硅和硅化合物、金属氧化物、金属和聚合物材料及它们各自的衍生物。

16、根据权利要求 15 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中所述配基为选



自于以下组中的一种或两种及两种以上任意组合的物质：抗原、抗体、配体、配体指数增强系统进化技术筛选的适配分子、多肽和单链或多链 DNA、核苷酸、聚核苷酸、糖、共酶、辅因子、抗生素、类固醇、病毒、细胞。

17、根据权利要求 15 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的毛细腔室中固定配基阵列的面具有亲反应介质性质而不固定配基阵列的面具有疏反应介质性质。

18、根据权利要求 15 所述的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述毛细腔室反应器进液结构或/和出液结构含有亲反应介质或/和吸反应介质材料或/和毛细管。

19、毛细芯片，特征在于：其中所有的反应器中固定有配基的结构都具有反应介质的毛细现象，而且其中至少有一个是上述毛细腔室反应器。

20、根据权利要求 19 所述的一种毛细芯片，特征在于：其至少一个反应器中固定有抗原，而另一个反应器中固定有与所述抗原相应的抗体。

21、一种芯片元件，特征在于：其为上述毛细腔室芯片或/和毛细芯片的顶面元件或/和底面元件或所述顶面元件或/和底面元件的制备元件，所述制备元件至少一面上含有至少一个上述毛细腔室反应器的底面或顶面、部分或全部腔室壁、和部分或全部封闭结构。

22、一种装置，特征在于：其与上述配基板一起形成上述可逆密闭式毛细腔室芯片或/和可逆密闭式毛细芯片。

23、根据权利要求 22 所述的一种装置，特征在于：其包括与上述配基板相适应的顶面元件，所述顶面元件包括毛细腔室顶面、顶面进液结构 16、顶面出液结构 17、顶面定位结构 18 和顶面密封结构 19，而且其是独立使用的装置或是反应仪器或检测仪器的一个部分。

24、根据权利要求 22 所述的一种装置，特征在于：所述顶面密封结构包括光滑平面、弹性涂层和阻湿润涂层之一种或一种以上的组合。

说明书

毛细腔室芯片、毛细芯片及芯片元件及装置

技术领域:

本发明涉及样品定性和/或定量分析的检测装置、特别是检测芯片, 以及构成检测芯片的元件以及相关装置。

背景技术:

检测芯片, 在本发明中也简称芯片, 是目前发展最为引人注目的检测装置之一。目前最常用的芯片是生物芯片, 生物芯片中最常用的是多肽芯片和基因芯片。多肽芯片是以多个氨基酸的序列结构(包括蛋白质)作为探针固定在基片上制备的生物芯片。基因芯片是用待检标本中核酸、核苷酸与互补核酸、核苷酸探针杂交, 形成杂交体, 或与特异性抗体结合, 再用呈色反应显示检测结果的芯片。生物芯片有着广泛的应用范围, 包括基因表达检测、基因筛选、药物筛选、疾病诊断治疗、环境监测和治理、司法鉴定等领域。

芯片的核心是其上的反应器。本发明中的芯片反应器, 是指芯片中有序地固定有探针并在检测时与目标物发生特异性反应的场所及与其连通的其它相关结构。本发明中的芯片的探针, 包括所有可以以可寻址的方式固定在固相载体上的具有特异性反应的物质, 包括生物配基, 例如 DNA、多肽、蛋白质、细胞、组织等生物成分。在本发明中, 基片是指芯片中包含有固定探针的固相载体的部件; 探针板是指固定有探针的基片。在本发明中, 按照芯片上反应器的数目 n , 芯片被定义为单反应器芯片 ($n=1$) 和多反应器芯片 (n 等于或大于 2)。

本发明中, 按照检测过程中所加入的液相介质能否在反应器中定向流动, 反应器被定义为流动反应器和非流动反应器; 以流动反应器和非流动反应器为特征的生物芯片被分别定义为流动芯片和非流动芯片。

本发明中, 按照反应器探针阵列上方在整个检测过程中是否开放, 将反应器分别定义为开放式和封闭式反应器; 以此反应器为特征的芯片, 被分别定义为开放式和封

闭式芯片。

芯片反应器通常同时具有上述几种反应器的性质。本发明中，这些反应器被定义为以其所具有的全部性质为共同特征的反应器，以此反应器为特征的生物芯片也被同样地定义。例如，如果在检测过程中探针阵列上方为无覆盖物的开放结构，则所加入的液相介质能在反应器中定向流动，则该反应器被定义为开放式流动反应器，相应的芯片被定义为开放式流动芯片。其它以次类推。

芯片的现状如下：

1、非流动芯片

非流动芯片包括封闭式非流动芯片和开放式非流动芯片，目前最广泛使用的是开放式非流动芯片。目前的开放式非流动芯片包括单反应器开放式非流动芯片和多反应器开放式非流动芯片。单反应器开放式非流动芯片的一个例子是以显微载玻片为基础，经活化、点样制成、无其它新增结构的芯片。封闭式非流动芯片在反应时对反应器进行封闭，在加液和洗涤时揭开封闭层操作（参考《多样品微阵列生物芯片》（中国专利公告号 1335501））。

2、流动芯片

目前流动芯片分为三类：微流路芯片、毛细管芯片和微阵列流动芯片。

微流路芯片又称微流控芯片，是指以微管道（例如毛细管）为网络连接微泵、微阀、微储液器、微电极、微检测元件等集采样、前处理、液体输送等分析功能集成于一体的微全分析系统。微通道尺寸通常为：宽度小于0.05mm，深度小于0.025 mm。微流体芯片每一个反应器中通常只固定一种配基，一次检测样品中的一个目标物。微通道生物芯片的一个例子是Caliper Technologies Inc. 公司(www.caliper.com)的检测用生物芯片。微通道芯片的优点是灵敏度高、速度快。其缺点是：1），生产过程中需先刻蚀出微通道，点上探针，然后再进行微通道密封制作，其构造复杂，工业化生产难度非常大；2），检测时液体流速需用专门精密设备控制，例如电渗透装置，等；3），反应完成后，由于固定的探针分子在其内表面，对于某些检测例如荧光标记

物检测，不能直接使用普通芯片扫描仪读取结果。

毛细管芯片包括在毛细管通道的一段壁上或一段插入毛细管中的玻纤结构上固定配基的芯片，可见中国专利《毛细管生物芯片装置》（中国专利公告号2483395）。

微阵列芯片在很多时候又称作生物芯片或简称芯片。微阵列芯片的反应器中固定的是配基阵列。封闭式微阵列流动芯片可见中国专利《一种包含有封闭式的配基板》（中国专利号ZL022229310）。不可逆封闭式微阵列流动芯片可见中国专利《集成微流体和微阵列配基的微型片》（中国专利公告号2559986Y），可逆封闭式微阵列流动芯片可见中国专利《一种包含有封闭式的配基板》（中国专利号ZL022229310）。

总之，包括封闭式微阵列流动芯片在内的现有封闭式腔室流动芯片均只在一个面上固定配基，这在对灵敏度要求特别高时难以满足要求。其腔室中配基的分布仅限于阵列式（微阵列芯片），也对其日益发展的应用样化形成限制。此外，在使用某些信号读取装置（例如共聚焦光扫描仪）时，芯片需做成可逆封闭式流动芯片。特别是，现有的封闭式腔室流动芯片，在设计时考虑的因素为配基-目标物反应动力学条件和信号观测条件。液相介质在反应器中、尤其是在反应器的反应腔室中的移动，是通过机械输运、液相介质自重、进液结构或/和出液结构的亲水性之一种或一种以上的组合来实现的。对于反应腔室而言，这些都是外源性的液体传输动力。当然，反应腔室的顶面、底面和壁往往具有亲水性，然而单靠其亲水性这种内源性的液体传输动力是弱的。结果是，目前的封闭式微阵列芯片，在检测操作、特别是含有转换介质的操作中，在其反应器中反应腔室中液相介质的分布有时是不充分的，例如有气体存在阻碍液相介质的分布，从而影响检测结果。

发明内容：

本发明的目的在于提供一种制作简便，灵敏度高、反应介质分布均匀，反应介质

耗量小的流动芯片，以及构成此一芯片的片基和配基板以及相关装置。

因此，本发明的流动芯片是毛细腔室芯片：

本发明的毛细腔室芯片，特征在于：其至少一面上含有至少一个不可逆封闭式或可逆封闭式毛细腔室反应器1，所述毛细腔室反应器包括含有顶面2和底面3和腔室壁4的毛细腔室5、固定在所述毛细腔室中底面或/和顶面上的配基6以及与所述毛细腔室连通的进液结构7和出液结构8，其中毛细腔室的包括顶面和底面的尺寸、间距和材料性质的选择使得反应介质可以在所述毛细腔室中形成毛细现象，所述反应介质包括水溶液或/和有机液体，所述材料性质包括亲水性或/和疏水性。本发明所述的芯片，是一种定性和/或定量的微型化检测产品，其原理是将微量探针有序地固定在固相载体表面上，使其在检测条件下与样品中的目标分子发生特异反应，然后再对特异反应的结果进行识别反应器中包被的微量配基同样品中的目标分子发生特异，反应的结果可以以可寻址的方式进行识别。本发明所述的芯片包括但不限于现在流行的芯片概念(例如英语中的“Biochip”、“Microarray”、“Bioarray”)，其形式没有限制(可以是矩形、园蝶形、等等)。本发明中所述的不可逆封闭式或可逆封闭式毛细腔室反应器分别是指在整個检测过程中为封闭式或在检测过程中部分步骤为封闭式部分步骤为开放式的毛细腔室反应器。本发明的毛细腔室芯片，同目前的流动芯片的不同处在于因反应腔室尺寸、间距和材料性质的选择使得反应介质可以在其中形成毛细现象，同目前的微通道芯片或毛细管芯片的不同处在于其反应腔室。本发明的毛细腔室与毛细管芯片中的毛细管不同，是指由两个面及两面之间的结构形成的、而且反应介质可在其中产生毛细现象的结构。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有由顶面元件9和底面元件10形成或参与形成的一个或一个以上的毛细腔室反应器，而且所述顶面元件和底面元件中至少一个包含有片基。本发明所述的片基，是指一种活化固相载体，其用以固定配基的表面具有宏观平面的特征，例如由玻片活化形成的活化玻片等等。由于本发明的毛细腔室反应器的形成不必受片基形状的限制，本发明芯片中的片基可以是矩形、圆形等

各种几何形状。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的配基，其在所述片基上呈包括阵列式 11、虚线式 12、实线式 13、虚条式 14 和实条式 15 的各种有序公布。实际上，根据芯片不同的使用，可以有也应当有配基有序分布方式的不同选择。局限于唯一的阵列式分布是没必要的。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的毛细腔室，其顶面和底面的最大横向宽度为 0.5mm-75mm、优选方案 1.5 mm -35mm，其顶面和底面的间距小于 500um、优选方案小于 100um，其顶面或/和底面材料的静态反应介质接触角小于 70 度、优选方案小于 50 度、更优选方案小于 35 度。由于面积和间距的选择范围大，必要的可通过提高其顶面或/和底面的亲介质性来提供毛细现象以保证均匀湿润。

一方面，本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有不可逆封闭式毛细腔室反应器，所述封闭是通过顶面元件和底面元件之间的包括粘合或/和热融合或/和HF或硅酸钠低温键合的方式形成的。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中至少参与形成毛细腔室的顶面元件部分或/和底面元件部分透明而且其厚度小于1mm、优选方案小于0.2mm。在本发明实施例，此一透明元件的例子为原高0.15mm的盖玻片或活化盖玻片。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其可直接由信号检测仪器检出反应结果，所述信号检测仪器包括共聚焦荧光扫描仪。在实施例，当顶面元件盖玻片足够厚时（ $\leq 0.15\text{mm}$ ），本发明的芯片可直接用于光聚集荧光扫描仪而不需作拆卸处理，有无盖玻片所得到的结果并无明显不同。

又一方面，本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其含有可逆封闭式毛细腔室反应器，其中的顶面元件或/和底面元件中含有毛细腔室壁和与所述腔室壁连通或不连通的片基密封结构，所述片基密封结构包括机械密封结构或/和物理化学隔离密封结构或/和胶粘密封结构。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和机械密封结构包括含有

邵尔硬度20-100度的高分子材料涂层或片或带。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述高分子材料包括下列一种或一种以上的高分子组合：天然橡胶及其衍生物；合成橡胶、如丁腈胶、丁基胶、氟橡胶、硅橡胶、氟硅橡胶等；各种有机聚合物、如有机硅聚合物、含氟聚合物、聚碳酸酯、塑料。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和物理化学隔离密封结构包括含有静态反应介质接触角大于80度的高分子材料或/和纳米材料的疏反应介质涂层或疏反应介质片、带。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述高分子材料包括有机硅和含氟聚合物。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述纳米材料包括含有下列一种或一种以上的纳米粉体的材料：金、钒、铅、银、铁及其氧化物粉体和氧化硅、氧化钛、氧化铝粉体的修饰结合有疏水基的衍生物粉体。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述腔室壁或/和胶粘密封结构包括可逆胶粘层和不可逆胶粘层，在为不可逆胶粘层时毛细腔室在需要时通过开放顶面或底面形成开放式腔室。

另一方面，本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中所述毛细腔室顶面或/和底面的材料选自于以下之一或任意两种或两种以上的组合：玻璃、硅和硅化合物、金属氧化物、金属和聚合物材料及它们各自的衍生物等等。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中所述配基为选自于以下组中的一种或两种及两种以上任意组合的物质：抗原、抗体、配体、配体指数增强系统进化技术（SELEX）筛选的适配分子、多肽和单链或多链DNA、核苷酸、聚核苷酸、糖、共酶、辅因子、抗生素、类固醇、病毒、细胞。

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：其中的毛细腔室中固定配基阵列的面具有亲反应介质性质而不固定配基阵列的面具有疏反应介质性质。

1

本发明的一种毛细腔室芯片，特征在于：所述毛细腔室反应器进液结构或/和出液结构含有亲反应介质或和吸反应介质材料。

本发明的毛细芯片为：

本发明毛细芯片特征在于：其中所有的反应器中固定有配基的结构都具有反应介质的毛细现象，而且其中至少有一个是上述毛细腔室反应器。例如，一个毛细腔室反应器通过毛细管与一个毛细管反应器联连而成的芯片，等等。

本发明的一种毛细芯片，特征在于：其至少一个反应器中固定有抗原，而另一个反应器中固定有与述抗原相应的抗体，其间有微通道或/和固定有吸附抗原或/和抗体或/和抗抗体的结构。在实施例3中给出了一个这种毛细芯片的例子。

本发明的芯片元件是：

本发明的一种芯片元件，特征在于：其为上述毛细腔室芯片或/和毛细芯片的顶面元件或/和底面元件或所述顶面元件或/和底面元件的制备元件，所述制备元件至少一面上含有至少一个上述毛细腔室反应器的底面或顶面、部分或全部腔室壁、和部分或全部封闭结构。

本发明的装置是：

本发明的一种装置，特征在于：其与上述配基板一起形成上述可逆密闭式毛细腔室芯片或/和可逆密闭式毛细芯片，而且其是独立使用的装置或是反应仪器或检测仪器的一个部分。

本发明的一种装置，特征在于：其包括与上述配基板相适应的顶面元件，所述顶面元件包括毛细腔室顶面、顶面进液结构16、顶面出液结构17、顶面定位结构18和顶面密封元件19。

本发明的一种装置，特征在于：所述顶面密封元件包括光滑平面、弹性涂层和阻

湿润涂层之一种或一种以上的组合。

本发明的一种装置，特征在于：所述顶面元件的材料选自于以下之一或任意两种或两种以上的组合：玻璃、硅、金属氧化物、金属和聚合物材料及它们各自的衍生物。

本发明配基板的基本优点在于：这种毛细腔室芯片检测装置结合了封闭式腔室芯片和毛细管芯片等背景技术中所述各种芯片的优点，既具有可连续操作性，又具有反应介质均匀分布的可靠性。由于采用了单加样口的毛细腔室设计，液体自动充满整个从入口到出口的毛细腔室，不会出现气泡影响检测结果的现象。由于可以连续流动，注入样品量可控，可以提高反应灵敏度。检测还可以根据反应需要控制介质使用量，特别是需要标记物时，标记物的用量可以控制在相当低的水平。由于可以双面固定配基，提供了提高灵敏度的新途径。总之，本发明的芯片，制作简便，灵敏度高，消耗反应介质少，操作方便而使检测时间缩短。

附图及图面说明：

图1：一种本发明配基板上的封闭式反应器俯视示意图

图2：图1配基板上的封闭式反应器a-a剖视示意图

图3：一种可逆密闭式毛细腔室芯片顶面元件仰视示意图

图4：配基在毛细腔室呈有序分布的形式示意图

图5：一种配基在毛细腔室壁、毛细腔室顶面、毛细腔室底面呈无序分布的封闭式反应器俯视示意图

图6：图5封闭式反应器b-b剖视示意图

图7：一种配基板上的封闭式反应器俯视示意图

图8：图7配基板上的封闭式反应器c-c剖视示意图

图9：一种可逆封闭式反应器配基板俯视示意图

图10: 一种毛细腔室底面和顶面固定配基的可逆封闭式毛细腔室芯片俯视示意图

图11: 一种毛细腔室底面和顶面固定配基的可逆封闭式毛细腔室芯片d-d剖面示意图

图12: 一种毛细腔室芯片吸水盒俯视示意图

图13: 一种顶面固定配基可逆封闭式毛细腔室芯片双面不干胶密封件示意图

图14: 一种顶面固定配基可逆封闭式毛细腔室芯片示意图

图15: 一种毛细结构封闭式毛细腔室芯片示意图

图16: 一种毛细结构封闭式毛细腔室芯片示意图

图17: 是图16一种毛细结构封闭式毛细腔室芯片e-e剖面示意图

图18: 另一种毛细结构封闭式毛细腔室芯片示意图

图19: 另一种毛细结构封闭式毛细腔室芯片示意图

1、毛细腔室反应器 2、毛细腔室顶面 3、毛细腔室底面 4、毛细腔室壁
5、毛细腔室 6、毛细腔室芯片配基 7、毛细腔室芯片进液结构 8、毛细腔室芯片出液结构 9、毛细腔室顶面单元 10、毛细腔室底面单元 11、配基呈阵列式分布示意图 12、配基呈虚线式分布示意图 13、配基呈实线式分布示意图 14、配基呈虚条式分布示意图 15、配基呈实条式分布示意图 16、可逆密闭式毛细腔室芯片顶面进液结构 17、可逆密闭式毛细腔室芯片顶面出液结构 18、顶面定位结构 19、顶面密封元件 20、密封结构 21、吸水材料

实施例:

实施例1, 一种不可逆封闭式毛细腔室芯片

本实施例中的玻片分别为购自美国 ESCO SCIENTIFIC 公司的显微载玻片(以下简称载玻片, 尺寸 75X25X1.0mm)和盖玻片(尺寸 60X24X0.15mm)。本实施例中的3种片基由上述玻片制备:氨基载玻片、氨基盖玻片和黑漆载玻片。玻片的氨基化方法参考蒋中华等《生物分子固定化技术及应用》, 化学工业出版社, 北京, 1998)。黑漆载玻片的制备参考《一种对目标物进行定性和/或定量分析的检测装置及检测方法》

(中国专利申请号 031174469), 所用黑漆为创可喷(HD-036, B-92P, 黑珍珠, 中国上海启阜实业发展公司)。氨基盖玻片的宽度切割为 12.5。

本实施例中的配基分别为 HIV 抗原和 HCV 抗原(北京人民医院肝病研究所), 它们的点样浓度均在 1.0-1.5mg/ml 之间。在本实施例中, 还有适当浓度(约 0.08mg/ml)的氧化硅粒子(直径 20-40nm, Sigma-alderich 公司)加入到抗原溶液中。

1). 毛细腔室单面芯片的制备

在本实施例中给出 3 种毛细腔室单面芯片的制备例: 底面元件分别含有亲水片基(氨基载玻片)和疏水片基(黑漆载玻片)的各 1 种(分别记为 A1 和 A2), 顶面元件含有亲水片基(氨基盖玻片)的 1 种(记为 A3)。

含有片基的元件的制备: 在上述片基上, 用高疏水材料(有机硅高疏水涂料, 成都晨光化工研究院)将预留固定配基的 6 个区域(参考图 16、图 17, 每个区域宽 4mm)之外的区域均匀涂满。待其过夜干燥后, 将上述配基溶液用点样机(GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司)以每种配基 2 个点的 2X2 配基阵列的形式点到上述预留区域内。在室温下包被反应 3 小时后, 经小牛血清封闭, 清洗干燥后备用。

在 A1 和 A2 中, 所用顶面元件为上述盖玻片(尺寸 60X12.5X0.15mm), 所用底面元件为上述制备的含有片基的元件。在 A1 和 A2 中, 所用顶面元件为上述制备的含有片基的元件, 所用底面元件为上述载玻片(尺寸 75X25.0X1.0mm)。顶面元件与底面元件的结合, 采用胶粘法。所用胶粘剂为二元还氧树脂(万能粘合剂, 成都晨光化工研究院)。将胶粘剂按使用说明书薄涂在含有片基的元件的超疏水涂层上, 再将另一元件粘上去。胶粘完成后, 用上述有机硅高疏水涂料在底面元件上按图 16、图 17 所示涂出每个反应器的入液池和出液池。

所制备的毛细腔室芯片, 其毛细腔室宽度为 4mm, 顶面与底面的间距小于 0.08mm, 玻片表面的静态水接触角 44 度, 黑漆涂层的静态水接触角 58 度。

2). 毛细腔室双面芯片的制备:

含有片基的元件的制备与本实施例 1) 相同。所用顶面元件基于氨基盖玻片, 所用底面元件基于氨基载玻片。将上述配基溶液用上述点样机 (GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司) 在顶面元件和底面元件的对应位置域上以相同的形式分别点上 2X2 配基方阵, 并进行包被反应和封闭、清洗和干燥。所用顶面元件与底面元件的结合及入液池和出液池的形成同于本实施例 1)。

所制备的毛细腔室芯片(记作 A4), 其毛细腔室顶面与底面的尺寸为 4X12.5(宽 X 高), 顶面与底面的间距小于 0.08mm, 玻片表面的静态水接触角 44 度。

3). 毛细腔室芯片的特征检验

本实施例中使用 PBS 作为检验介质。将上述 1) 和 2) 中获得的芯片竖立(入液池在下方, 出液池在上方), 用 8 管加样枪将 5ul PBS 注入入液池中毛细腔室入口处, 观察到 PBS 水溶液经此入口充满毛细腔室并至出口。

4). 毛细腔室芯片的使用

在本实施例中, 1号样为HCV抗体阳性血清, 2号样为HIV₁₊₂抗体阳性人血清, 3号样为阳性对照物(HCV抗体和HIV₁₊₂抗体阳性血清对照物的混合物), 4号样品为阴性对照物(HCV抗体和HIV₁₊₂抗体阴性血清对照物的混合物)。所有的样品, 均是经使用经典的单反应器开放式芯片在同等反应条件下预先检测确定的。实验时, 4种样品分别加入上述毛细腔室单面芯片(A1、A2和A3)和毛细腔室双面芯片(A4), 每种样品加2个反应池。加样时样品作适当稀释, 加样量为3ul。

本实施例中加样方式有两种:

(1). 批加样: 操作时在加液池加入样品后, 由于毛细作用, 样品自动充满整个从入口到出口的毛细腔室, 未观察到气泡。将芯片放入孵箱, 反应温度 37℃, 反应时间 5 分钟。

(2). 连续加样: 操作时样品加热至 37℃, 将样品以流速 1ul/min 加入加液池, 由于毛细作用, 样品自动充满整个从入口到出口的毛细腔室, 未观察到气泡。加样时间 5 分钟。

反应完成后样品经出液池用纸吸干或用移液枪抽出。洗涤液可用批式或连续式加入,加入总量为20ul。

标记物为罗丹明标记的羊抗人二抗(Jackson ImmunoResearch Laboratories公司)。为尽量减少标记物用量,本实施例用批式加入,加入量为3ul,反应温度37度,反应时间5分钟。标记反应后的洗涤同于样品反应后的洗涤。干燥后直接使用激光共聚焦显微载检出结果(Afymetrix公司GMS 418芯片扫描仪),数据处理后得到结果如表1。

表1 芯片检测结果

芯片	HCV抗体阳性血清		HIV抗体阳性血清		阳性对照物		阴性对照物	
	HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体
批加样								
A1*	+	-	-	+	+	+	-	-
A2*	+	-	-	+	+	+	-	-
A3*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4**	+	-	-	+	+	+	-	-
连续加样								
A1*	+	-	-	+	+	+	-	-
A2*	+	-	-	+	+	+	-	-
A3*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4*	+	-	-	+	+	+	-	-
A4**	+	-	-	+	+	+	-	-

表中,“+”为阳性结果,“-”为阴结果;*与**分别为样品10倍稀释与20倍

稀释的结果

实施例 2, 一种可逆封闭式毛细腔室芯片

本实施例中的 2 种片基(氨基载玻片和黑漆载玻片)和 2 种配基(HCV 抗原和 HIV 抗原)与实施例 1 同。

1). 底面元件的制备:

(1). 以弹性材料为毛细腔室壁和密封结构的底面元件: 在氨基载玻片上, 用弹性材料(自干硅橡胶溶液, 成都晨光化工研究院)将预留固定配基的 8 个区域(参考图 3、图 4, 每个区域宽 4mm)之外的区域均匀涂满, 弹性材料层厚小于 0.06mm。待其过夜干燥后, 将上述配基溶液用点样机(GM 417 ARRAYER, GENETIC MICROSYSTEMS 公司)以每种配基 2 个点的 2X2 配基阵列的形式点到上述预留区域内。在室温下包被反应 3 小时后, 经小牛血清封闭, 清洗干燥后备用。所获底面元件记作 a1。

(2). 以高疏水材料为毛细腔室壁和密封结构的底面元件: 在本实施例中, 底面元件的制备与实施例 1 中 1) 的含有片基的元件的制备同。高疏水材料材料层厚小于 0.06mm。所获得的基于氨基载玻片和黑漆载玻片的底面元件分别记作 a2 和 a3。

(3). 以高疏水材料为毛细腔室壁、弹性材料为毛细腔室密封结构的底面元件: 在氨基载玻片上, 用高疏水材料(有机硅高疏水涂料, 成都晨光化工研究院)在预留固定配基的 8 个区域(每个区域宽 4mm)的边界上形成边界线涂层, 待其干燥后再将弹性材料(自干硅橡胶溶液, 成都晨光化工研究院)将高疏水边界之外的区域均匀涂满, 弹性涂层略高于高疏水涂层(层厚小于 0.05mm)。再将上述配基溶液进行包被, 包被方法同本实施例 1) 之 (1)。所获底面元件记作 a4。

(4). 以胶粘材料为毛细腔室壁和密封结构的底面元件: 在氨基载玻片上, 用胶粘材料(特氟隆单面不干胶, 成都晨光化工研究院)将预留固定配基的 8 个区域(参考图, 每个区域宽 4mm)之外的区域均匀粘合(层厚小于 0.2mm)。将上述配基溶液进行包被, 包被方法同本实施例 1) 之 (1)。所获底面元件记作 a5。

(5).无毛细腔室壁和密封结构的底面元件:直接将上述配基包被在氨基载玻片上,包被方法同本实施例1)之(1)。所获底面元件记作a6。

2). 顶面元件的制备:

(1). 无成型结构的顶面元件:此一顶面元件(图3)为尺寸100 mm x 40 mm x 2mm (长X宽X厚)的可重复使用的有进出液口、进出液管的不锈钢板。其与底面元件接触的面为平面,无密封结构。其每一对进出液口与底面元件上的每一个反应池的进出液区相对应。所获顶面元件记作b1。

(2).有成型结构的顶面元件:此一顶面元件(图3)为尺寸100 mm x 40 mm x 2mm (长X宽X厚)的可重复使用的有进出液口、进出液管的不锈钢板。其与底面元件接触的面上有密封结构。其密封结构为与底面元件反应池之外的区域对应的弹性材料层(自干硅橡胶溶液,成都晨光化工研究院)(层厚小于0.1mm)。其每一对进出液口与底面元件上的每一个反应池的进出液区相对应。所获顶面元件记作b2。

3). 毛细腔室芯片的特征检验

本实施例中使用 PBS 作为检验介质。将上述 1) 和 2) 中获得的芯片顶面元件和底面元件作密封连结。本实施例使用机械卡具压力来形成所述密封连结。根据顶面元件和底面元件的不同组合形成不同的芯片(见表 2)。将顶面元件和底面元件的组合物竖立(入液口在下方,出液口在上方),分别加入 PBS 至毛细腔室入入口处,开放入液口观察到 PBS 水溶液经此入口充满毛细腔室并至出口。

4). 毛细腔室芯片的使用

在本实施例中,所用样品同实施例1。实验时,4种样品分别加入上述毛细腔室芯片(表2),每种样品加2个反应池。加样时样品作适当稀释。

本实施例中加样方式有两种:

(1). 批加样:操作时在加液池加入样品并至出口后停止,由于毛细作用,样品自动充满整个从入口到出口的毛细腔室,未观察到气泡。将芯片放入孵箱,反应温度37℃,反应时间5分钟。

(2). 连续加样:操作时样品加热至37℃,将样品以先后以流速10ul/min和1ul/min加入加液池。加样时间5分钟。

反应完成后样品经出液口用纸吸干或用机械抽出。洗涤液可用批式或连续式加入,加入总量为40ul。

标记物为罗丹明标记的羊抗人二抗(Jackson ImmunoResearch Laboratories公司)。为尽量减少标记物用量,本实施例用批式加入,加入量约为5ul,反应温度37℃,反应时间5分钟。标记反应后的洗涤同于样品反应后的洗涤。干燥后直接使用激光共聚焦显微载检出结果(Afymetrix公司GMS 418芯片扫描仪),数据处理后得到结果如表1。

表2 芯片检测结果

芯片	顶面元件	底面元件	HCV抗体阳性血清		HIV抗体阳性血清		阳性对照物		阴性对照物	
			HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体	HCV抗体	HIV抗体
1	B1	A1	+	-	-	+	+	+	-	-
2	B1	A2	+	-	-	+	+	+	-	-
3	B1	A3	+	-	-	+	+	+	-	-
4	B1	A4	+	-	-	+	+	+	-	-
5	B1	A5	+	-	-	+	+	+	-	-
6	B2	A6	+	-	-	+	+	+	-	-
7	B2	A1	+	-	-	+	+	+	-	-
8	B2	A2	+	-	-	+	+	+	-	-
9	B2	A3	+	-	-	+	+	+	-	-

表中,“+”为阳性结果,“-”为阴结果

实施例 3, 一种毛细芯片

本实施例中的 2 种片基(氨基载玻片和氨基盖玻片)与实施例 1 同, 2 种配基为 HBS:Ag 和 HBS:Ad(北京人民医院肝病研究所)。

1). 毛细芯片的制备

固定配基元件的制备:在上述片基上,用高疏水材料(有机硅高疏水涂料,成都晨光化工研究院)将预留固定配基的 3x3mm(长 X 宽)的反应池和 57X0.4mm(长 X 宽)的反应沟及其间的微通道之外的区域均匀涂满(图)。待其过夜干燥后,将上述 HBS:Ag 和 HBS:Ab 溶液(1.0-1.5mg/ml)分别包被至反应池和反应沟中。在室温下包被反应 4 小时后,经小牛血清封闭,清洗干燥后备用。

单面毛细芯片所用顶面元件为上述盖玻片(尺寸 60X12.5X0.15mm),所用底面元件为上述制备的基于氨基载玻片的元件(尺寸 75X25X1.0mm)。双面毛细芯片所用顶面元件为上述基于氨基盖玻片的元件(尺寸 60X12.5X0.15mm),所用底面元件为上述制备的基于氨基载玻片的元件(尺寸 75X25X1.0mm)。顶面元件与底面元件的结合,采用与实施例 1 之 1)中的胶粘法。胶粘完成后,用上述有机硅高疏水涂料在底面元件上按图所示涂出反应器的入液池和出液池。单面毛细芯片和双面毛细芯片分别记作 B31 和 B32。

所制备的毛细芯片,其毛细腔室宽度为 3mm,毛细管宽度小于 0.45mm,顶面与底面的间距小于 0.08mm,玻片表面的静态水接触角 44 度。

2). 毛细芯片的特征检验

本实施例中使用 PBS 作为检验介质。将上述 1) 中获得的芯片竖立(入液池在下方,出液池在上方),将 5ul PBS 注入入液池中毛细管入口处,观察到 PBS 水溶液经此入口充满毛细管及毛细腔室并从出口溢出。

3). 毛细芯片的使用

在本实施例中,1号样为HBs抗原阳性人血清,2号样为HBs抗原阴性血清。所有的

样品, 均是经使用经典的单反应器开放式芯片在同等反应条件下预先检测确定的。实验时, 2种样品分别加入上述毛细芯片(B31和B32)。

本实施例中加样方式有两种:

(1). 批加样: 操作时在加液池加入样品(加样量为3 μ l)后, 由于毛细作用, 样品自动充满整个从入口、毛细管、毛细腔室到出口, 未观察到气泡。将芯片放入孵箱, 反应温度37度, 反应时间5分钟。

(2). 连续加样: 操作时样品加热至37度, 将样品以流速1 μ l/min加入加液池, 由于毛细作用, 样品自动充满整个从入口到出口的毛细腔室, 未观察到气泡。加样时间5分钟。

反应完成后样品经出液池用纸吸干或用移液枪抽出。洗涤液可用批式或连续式加入, 加入总量为20 μ l。

标记物为罗丹明标记的HBs:Ab。为尽量减少标记物用量, 本实施例用批式加入, 从出口加入, 加入量为3 μ l, 反应温度37度, 反应时间5分钟。标记反应后的洗涤同于样品反应后的洗涤但从出口加入洗涤液。干燥后直接使用激光共聚焦显微载检出结果 (Afymetrix公司GMS 418芯片扫描仪), 数据处理后得到结果如表3。

表3 芯片检测结果

芯片	HBs 抗原阳性血 清	HBs 抗原阴性血 清
批加样		
B31*	+	
B32*	+	-
B32**	+	-
连续加样		
B31*	+	-
B32*	+	-
B32**	+	-

表中, “+”为阳性结果, “-”为阴性结果;

2

*与**分别为样品10倍稀释与20倍稀释的结果

实施例4, 一种装置

本实施例的仪器或检测仪器的一个装置见图3, 为尺寸 100 mm x 40 mm x 2mm (长 X 宽 X 厚) 的不锈钢板, 形成与配基板相适应的顶面元件, 顶面元件包括毛细腔室顶面 4、顶面进液结构 16、顶面出液结构 17、顶面定位结构 18、顶面密封元件 19。板上进出液口穿过钢板达另一面的地方有连结进出液管的接口, 不锈钢板上与配基阵列的相应位置粘有厚度为 0.4mm 的氟橡胶密封结构, 还包括有定位结构、扣紧结构。氟橡胶密封结构为可重复使用的不吸附蛋白的氟橡胶。本实施例的可逆密封装置用机械连接在检测仪器上作为仪器或检测仪器的一个部分。使用时, 与配备有微流泵、恒温孵育室和/或可编程序控制器一道成为本实施例的封闭式毛细腔室芯片专用检测仪器。

说明书附图

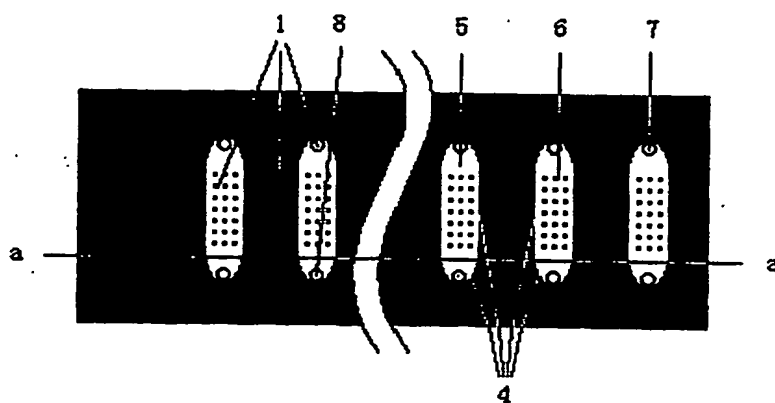


图1

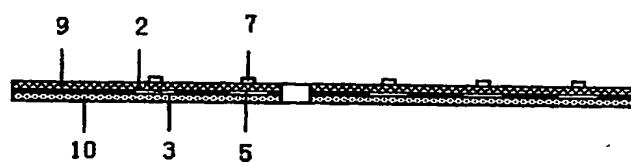


图2

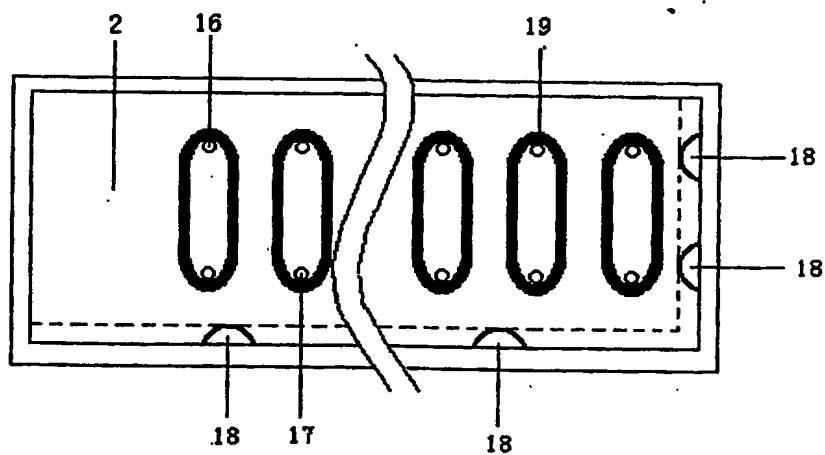


图3

说明书附图

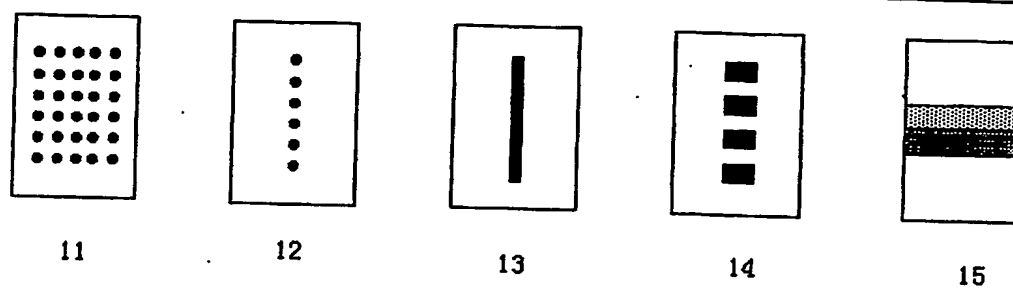


图4

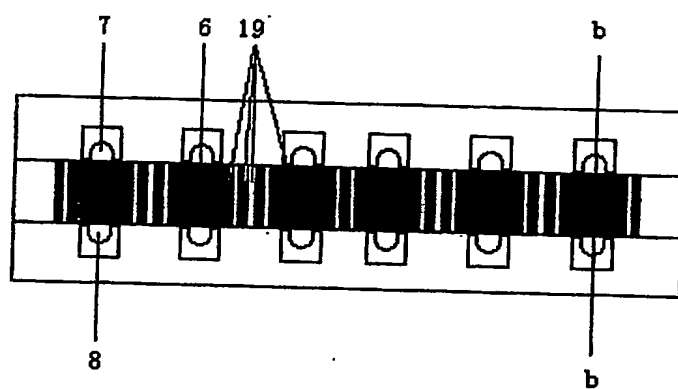


图5

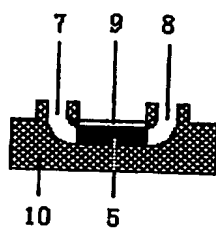


图6

说明书附图

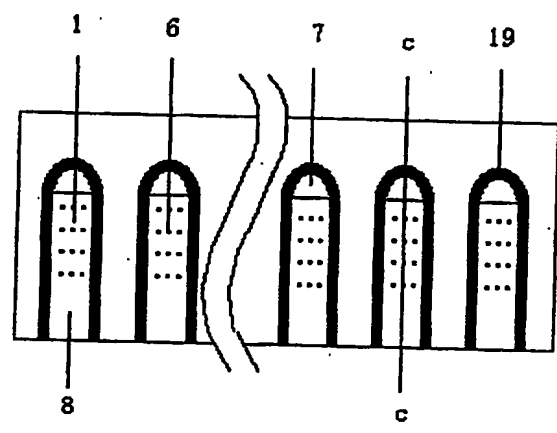


图7

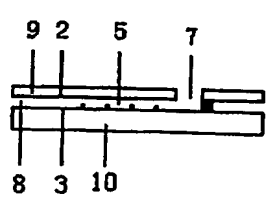


图8

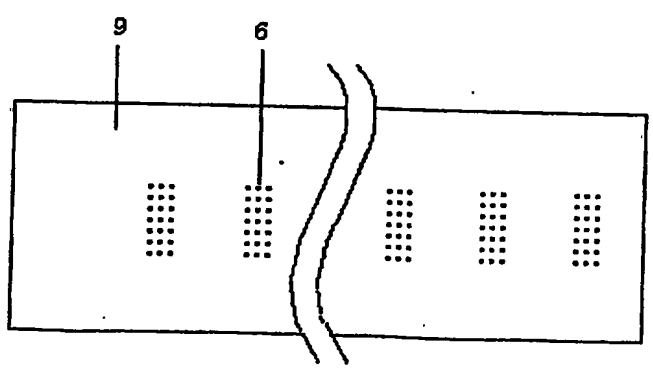


图9

说明书附图

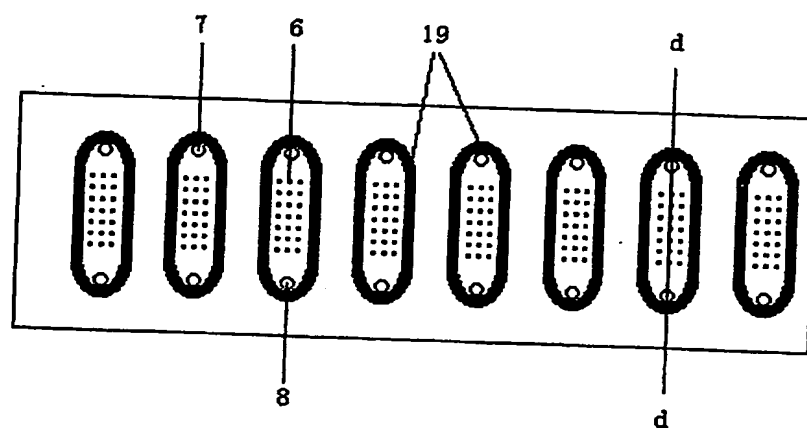


图10

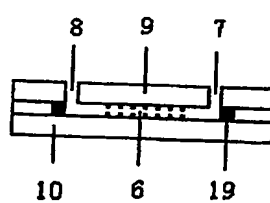


图11

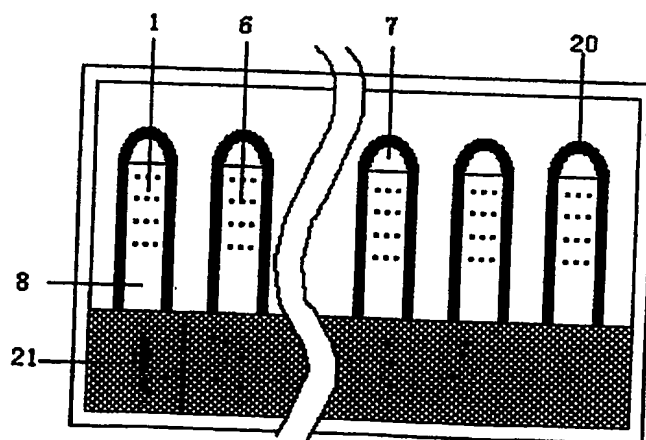


图12

说明书附图

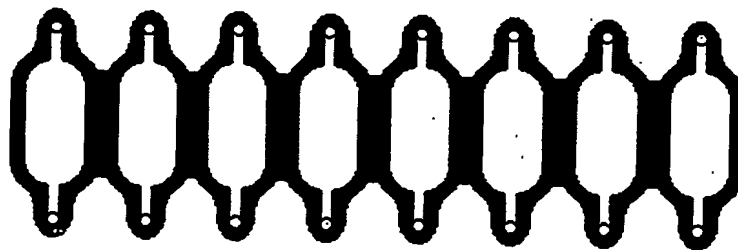


图13

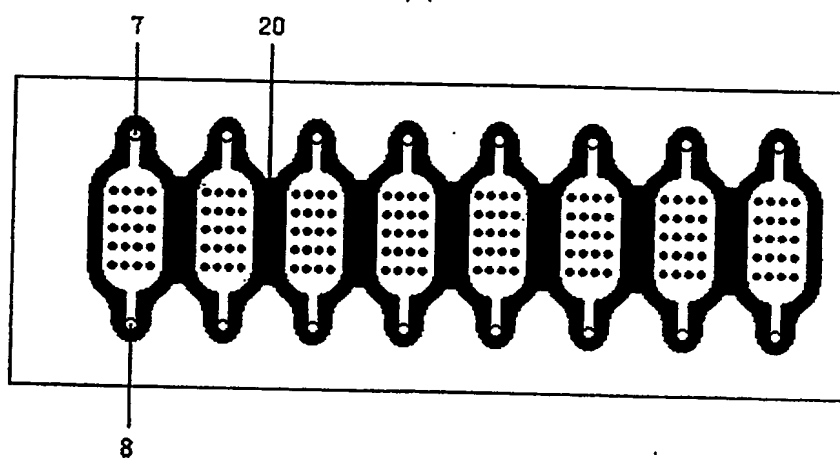


图14

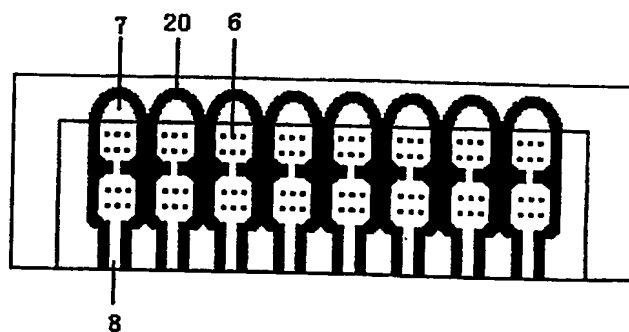


图15

说明书附图

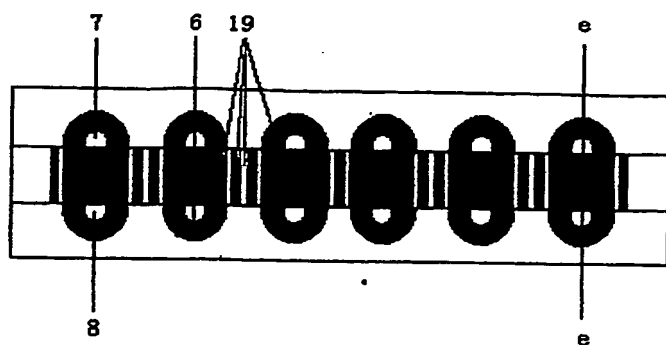


图16

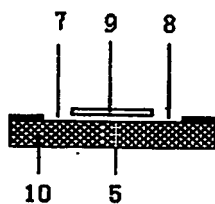


图17

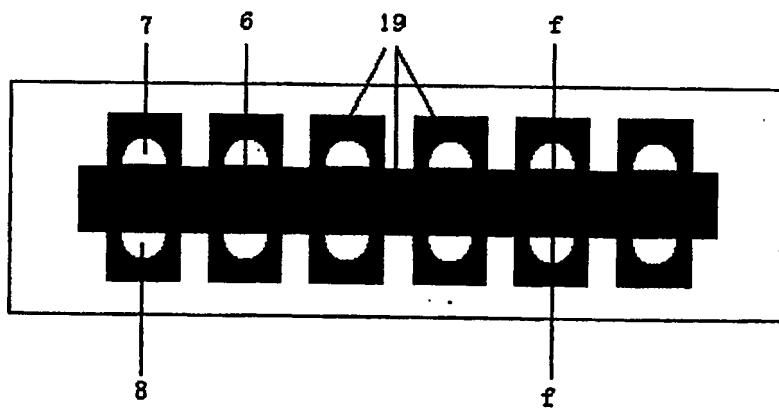


图18

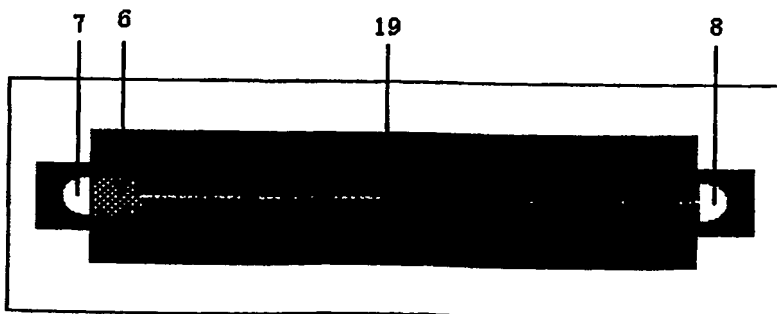


图19

This Page is inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ BLACK BORDERS
- ☒ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLORED OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REPERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images
problems checked, please do not report the
problems to the IFW Image Problem Mailbox**